



TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS

PCT

REC'D 22 FEB 2005

RAPPORT PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL SUR LA BREVETABILITÉ

(chapitre II du Traité de coopération en matière de brevets)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire	POUR SUITE À DONNER voir formulaire PCT/IPEA/416	
Demande internationale No. PCT/FR2004/000354	Date du dépôt international (jour/mois/année) 17.02.2004	Date de priorité (jour/mois/année) 18.02.2003
Classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois classification nationale et CIB C12N15/01, C12N9/10, C12P13/06, C12P13/08, C12P13/12		
Déposant METABOLIC EXPLORER		
<p>1. Le présent rapport est le rapport d'examen préliminaire international, établi par l'administration chargée de l'examen préliminaire international en vertu de l'article 35 et transmis au déposant conformément à l'article 36.</p> <p>2. Ce RAPPORT comprend 11 feuilles, y compris la présente feuille de couverture.</p> <p>3. Ce rapport est accompagné d'ANNEXES, qui comprennent :</p> <p>a. <input type="checkbox"/> un total de (envoyées au déposant et au Bureau international) feuilles, définies comme suit :</p> <p><input type="checkbox"/> les feuilles de la description, des revendications ou des dessins qui ont été modifiées et qui servent de base au présent rapport ou des feuilles contenant des rectifications autorisées par la présente administration (voir la règle 70.16 et l'instruction administrative 607).</p> <p><input type="checkbox"/> des feuilles qui remplacent des feuilles précédentes, mais dont la présente administration considère qu'elles contiennent une modification qui va au-delà de l'exposé de l'invention qui figure dans la demande internationale telle qu'elle a été déposée, comme il est indiqué au point 4 du cadre n° I et dans le cadre supplémentaire.</p> <p>b. <input type="checkbox"/> (envoyées au Bureau international seulement) un total de (préciser le type et le nombre de support(s) électronique(s)) , qui contiennent un listage de la ou des séquences ou un ou des tableaux y relatifs, déposés sous forme déchiffrable par ordinateur seulement, comme il est indiqué dans le cadre supplémentaire relatif au listage de la ou des séquences (voir l'instruction administrative 802).</p>		
<p>4. Le présent rapport contient des indications et les pages correspondantes relatives aux points suivants :</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Cadre n° I Base de l'opinion</p> <p><input type="checkbox"/> Cadre n° II Priorité</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Cadre n° III Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Cadre n° IV Absence d'unité de l'invention</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Cadre n° V Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration</p> <p><input type="checkbox"/> Cadre n° VI Certains documents cités</p> <p><input type="checkbox"/> Cadre n° VII Irrégularités dans la demande internationale</p> <p><input type="checkbox"/> Cadre n° VIII Observations relatives à la demande internationale</p>		
Date de présentation de la demande d'examen préliminaire internationale 26.08.2004	Date d'achèvement du présent rapport 23.02.2005	
Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international  Office européen des brevets - P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk - Pays Bas Tél. +31 70 340 - 2040 Tx: 31 651 epo nl Fax: +31 70 340 - 3016	Fonctionnaire autorisé Devijver, K N° de téléphone +31 70 340-4124 	

**Demande internationale n°
PCT/FR2004/000354**

Case No. III Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle

1. La question de savoir si l'objet de l'invention revendiquée semble être nouveau, impliquer une activité inventive (ne pas être évident) ou être susceptible d'application industrielle n'a pas été examinée pour ce qui concerne :

- ☐ l'ensemble de la demande internationale,
- ☒ les revendications nos 1-4,7-35 (partiellement, pour autant qu'applicables); 5,6,36,37 (complètement) parce que :
- ☐ la demande internationale, ou les revendications nos en question, se rapportent à l'objet suivant, à l'égard duquel l'administration chargée de l'examen préliminaire international n'est pas tenue d'effectuer un examen préliminaire international (*préciser*) :
- ☒ la description, les revendications ou les dessins (*en indiquer les éléments ci-dessous*), ou les revendications 11-28,35 (partiellement, pour autant qu'applicables); 29-34 (complètement) en question ne sont pas clairs, de sorte qu'il n'est pas possible de formuler une opinion valable (*préciser*) :

voir feuille séparée

- ☒ les revendications, ou les revendications nos 11-28,35 (partiellement, pour autant qu'applicables); 29-34 (complètement) en question, ne se fondent pas de façon adéquate sur la description, de sorte qu'il n'est pas possible de formuler une opinion valable.
- ☒ il n'a pas été établi de rapport de recherche internationale pour les revendications nos 1-4,7-35 (partiellement, pour autant qu'applicables); 5,6,36,37 (complètement) en question.
- ☐ le listage de la ou des séquences de nucléotides ou d'acides aminés n'est pas conforme à la norme prévue dans l'annexe C des instructions administratives car :
- le listage présenté par écrit ☐ n'a pas été fourni
- ☐ n'est pas conforme à la norme
- le listage sous forme déchiffrable par ordinateur
- ☐ n'a pas été fourni
- ☐ n'est pas conforme à la norme
- ☐ le ou les tableaux relatifs au listage des séquences de nucléotides ou d'acides aminés -lorsqu'ils sont sous forme déchiffrable par ordinateur seulement- ne sont pas conformes aux exigences techniques prévues dans l'annexe C-*bis* des instructions administratives.
- ☐ Voir le cadre supplémentaire pour de plus amples détails.

**RAPPORT PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL
SUR LA BREVETABILITÉ**

Demande internationale n°
PCT/FR2004/000354

Case No. IV Absence d'unité de l'invention

1. ☒ En réponse à l'invitation à limiter les revendications ou à payer des taxes additionnelles, le déposant a :
☐ limité les revendications.
☐ payé des taxes additionnelles.
☐ payé des taxes additionnelles sous réserve.
☒ ni limité les revendications ni payé des taxes additionnelles.
2. ☐ L'administration chargée de l'examen préliminaire international estime qu'il n'est pas satisfait à l'exigence d'unité d'invention et décide, conformément à la règle 68.1, de ne pas inviter le déposant à limiter les revendications ou à payer des taxes additionnelles.
3. L'administration chargée de l'examen préliminaire international estime que, aux termes des règles 13.1, 13.2 et 13.3,
☐ il est satisfait à l'exigence d'unité de l'invention.
☒ il n'est pas satisfait à l'exigence d'unité de l'invention, et ce pour les raisons suivantes :
voir feuille séparée
4. En conséquence, le présent rapport a été établi à partir des parties suivantes de la demande internationale :
☐ toutes les parties de la demande.
☒ les parties relatives aux revendications nos 1-4, 7-35 (partiellement, pour autant qu'applicables) .

Cadre n° V Déclaration motivée selon l'article 35.2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration

- | | | | |
|--|------|----------------|-----------------------|
| 1. Déclaration | | | |
| Nouveauté | Oui: | Revendications | 26 |
| | Non: | Revendications | 1-4, 7-25, 27, 28, 35 |
| Activité inventive | Oui: | Revendications | 26 |
| | Non: | Revendications | 1-4, 7-25, 27, 28, 35 |
| Possibilité d'application industrielle | Oui: | Revendications | 1-4, 7-28, 35 |
| | Non: | Revendications | |

2. Citations et explications (règle 70.7) :

voir feuille séparée

Cadre supplémentaire relatif au listage de la ou des séquences

Suite du cadre n° I, point 2:

1. En ce qui concerne la ou les séquences de nucléotides ou d'acides aminés divulguées dans la demande internationale, le cas échéant, le présent rapport a été établi sur la base des éléments suivants :

a. Nature de l'élément :

- ☒ un listage de la ou des séquences
☐ un ou des tableaux relatifs au listage de la ou des séquences

b. Type de support :

- ☒ sur papier sous forme écrite
☒ sur support électronique sous forme déchiffrable par ordinateur

c. Moment du dépôt ou de la remise :

- ☒ contenu(s) dans la demande internationale telle que déposée
☒ déposé(s) avec la demande internationale, sous forme déchiffrable par ordinateur
☐ remis ultérieurement à la présente administration aux fins de la recherche ou de l'examen
☐ reçu(s) par la présente administration sous forme d'une modification, le

2. ☐ De plus, lorsque plus d'une version ou d'une copie d'un listage des séquences ou d'un ou plusieurs tableaux y relatifs a été déposée, les déclarations requises selon lesquelles les informations fournies ultérieurement ou au titre de copies supplémentaires sont identiques à celles initialement fournies et ne vont pas au-delà de la divulgation faite dans la demande internationale telle que déposée initialement, selon le cas, ont été remises.

3. Observations complémentaires, le cas échéant :

Concernant le point III.

- 1 Revendications: 1-4,7-35 (partiellement, pour autant qu'applicables), 5,6,36,37 (complètement) (cf. point IV absence d'unité d'invention: invention 1):
Procédé de préparation de microorganismes évolués permettant une modification d'une voie de biosynthèse de méthionine, microorganismes, gènes et protéines obtenus par ce procédé et leur utilisation dans un procédé de biotransformation.
- 2 Les revendications 11-35 présentes ont trait à des produits définis en faisant référence à une caractéristique ou propriété souhaitable, à savoir le procédé par lequel ils sont susceptibles d'être obtenus et/ou qu'il s'agit d'une enzyme à activité "méthionine synthase modifiée".

Les revendications couvrent tous les produits présentant cette caractéristique ou propriété, alors que la demande ne fournit un fondement au sens de l'Article 6 PCT et un exposé au sens de l'Article 5 PCT que pour un nombre très limité de tels produits. Dans le cas présent, les revendications manquent de fondement et la demande manque d'exposé à un point tel qu'une recherche significative sur tout le spectre couvert par les revendications est impossible. Indépendamment des raisons évoquées ci-dessus, les revendications manquent aussi de clarté (Art. 6 PCT). En effet, on a cherché à définir le produit au moyen du procédé par lequel ils sont susceptibles d'être obtenus et/ou qu'il s'agit d'une enzyme à activité "méthionine synthase modifiée". Ce manque de clarté est de nouveau tel qu'une recherche significative sur tout le spectre couvert par les revendications est impossible. En conséquence, la recherche n'a été effectuée que pour les parties des revendications dont l'objet apparaît être clair, fondé et suffisamment exposé, à savoir les parties concernant la mutation E325A de la cystathionine-gamma-synthase (cf. les revendications 25 et 26) et le clone K183 (cf. la revendication 12).

Concernant le point IV.

Les différents groupes d'inventions sont les suivants:

- 1) revendications: 1-4,7-35 (partiellement, pour autant qu'applicables)
Procédé de préparation de microorganismes évolués permettant une modification d'une

voie de biosynthèse de méthionine, microorganismes, gènes et protéines obtenus par ce procédé et leur utilisation dans un procédé de biotransformation.

2) revendications: 1-4,7-35 (partiellement, pour autant qu'applicables)

Procédé de préparation de microorganismes évolués permettant une modification d'une voie de biosynthèse de cystéine, microorganismes, gènes et protéines obtenus par ce procédé et leur utilisation dans un procédé de biotransformation.

3) revendications: 1-4,7-35 (partiellement, pour autant qu'applicables)

Procédé de préparation de microorganismes évolués permettant une modification d'une voie de biosynthèse de thréonine, microorganismes, gènes et protéines obtenus par ce procédé et leur utilisation dans un procédé de biotransformation.

4) revendications: 1-4,7-35 (partiellement, pour autant qu'applicables)

Procédé de préparation de microorganismes évolués permettant une modification d'une voie de biosynthèse de lysine, microorganismes, gènes et protéines obtenus par ce procédé et leur utilisation dans un procédé de biotransformation.

5) revendications: 1-4,7-35 (partiellement, pour autant qu'applicables)

Procédé de préparation de microorganismes évolués permettant une modification d'une voie de biosynthèse d'isoleucine, microorganismes, gènes et protéines obtenus par ce procédé et leur utilisation dans un procédé de biotransformation.

6) revendications: 1,2,7-35 (partiellement, pour autant qu'applicables)

Procédé de préparation de microorganismes évolués permettant une modification des voies de biosynthèse des acides nucléiques, microorganismes, gènes et protéines obtenus par ce procédé et leur utilisation dans un procédé de biotransformation.

7) revendications: 1,2,7-35 (partiellement, pour autant qu'applicables)

Procédé de préparation de microorganismes évolués permettant une modification des voies de biosynthèse des lipides, microorganismes, gènes et protéines obtenus par ce procédé et leur utilisation dans un procédé de biotransformation.

8) revendications: 1,2,7-35 (partiellement, pour autant qu'applicables)

Procédé de préparation de microorganismes évolués permettant une modification des voies de biosynthèse des sucres, microorganismes, gènes et protéines obtenus par ce procédé et leur utilisation dans un procédé de biotransformation.

9) revendications: 1,2,7-35 (partiellement, pour autant qu'applicables); 5,6,36,37 (complètement)

Procédé de préparation de microorganismes évolués permettant une modification des voies métaboliques qui participent à la consommation du NADPH, microorganismes, gènes et protéines obtenus par ce procédé et leur utilisation dans un procédé de biotransformation.

Ils ne sont pas liés entre eux de telle sorte qu'ils ne forment qu'un seul concept inventif général (règle 13.1 PCT), et ce pour les raisons suivantes:

L'art antérieur décrit des procédés de préparation de microorganismes évolués, permettant une modification des voies métaboliques (p.ex. la biosynthèse des acides nucléiques, la biosynthèse de méthionine), comprenant les trois étapes décrites dans la revendication 1. Le document WO02083892 (cf. les revendications 1-30) décrit un procédé d'évolution artificielle in vivo de protéines, ledit procédé permettant de faire évoluer une protéine X (p.ex. une kinase) par complémentarité d'une protéine apparentée Y. La protéine X mutée présente une activité élargie par rapport à la protéine initiale (p.ex. les mutants D133E et R104Q de la désoxycytidine kinase (DCK) ont été obtenus, chacune de ces mutations conférant l'acquisition de l'activité thymidine kinase par DCK). Le document XP002154849 (cf. le document en entier) décrit un procédé de préparation de microorganismes évolués comprenant les trois étapes décrites dans la revendication 1. La hydantoinase mutée présente une énantiométrie inversée et peut être utilisée dans un procédé de production de L-méthionine amélioré.

Au vu de l'art antérieur, le problème de la présente demande est la mise à disposition d'autres procédés de préparation de microorganismes évolués, permettant une modification des voies métaboliques alternative, comprenant les trois étapes décrites dans la revendication 1. Les solutions 1-9 au problème se résument à la mise à disposition des procédés de préparation de microorganismes évolués permettant une modification d'une voie métabolique concernant:

- 1) la biosynthèse de méthionine;
- 2) la biosynthèse de cystéine;
- 3) la biosynthèse de thréonine;
- 4) la biosynthèse de lysine;
- 5) la biosynthèse d'isoleucine;
- 6) la biosynthèse des acides nucléiques;
- 7) la biosynthèse des lipides;
- 8) la biosynthèse des sucres;
- 9) la consommation du NADPH.

Etant donné que des procédés de préparation de microorganismes évolués, permettant une modification des voies métaboliques, comprenant les trois étapes décrites dans la revendication 1 sont décrits dans l'art antérieur (cf. WO02083892 et XP002154849),

suite aux différences techniques essentielles existant entre les solutions, et compte tenu que nulle autre caractéristique ne peut être distinguée qui eût, au regard de l'art antérieur, pu être considérée comme une caractéristique technique spéciale, l'opinion de la division de recherche est qu'il n'existe pas de concept inventif unique couvrant la pluralité des solutions proposées par la présente demande. Par voie de conséquence, l'unité d'invention requise n'existe pas (R. 13.1 PCT) et les diverses inventions, n'appartenant pas à un concept inventif commun, sont formulées comme des sujets différents ainsi que notifiés (Art. 17(3)(a) PCT).

Concernant le point V.

1 Il est fait référence aux documents suivants dans la présente notification:

D1: WO 93/17112 A (GENENCOR INT) 2 septembre 1993 (1993-09-02)

D2: DUCHANGE N ET AL: "E.coli metB and metL (5' end) genes coding for cystathione gamma-synthase and aspartokinase II-homoserine dehydrogenase II" EMBL, 13 juin 1985 (1985-06-13), XP002274156

D3: KAWASHIMA T ET AL: "Cystathionine beta lyase / O-succinylhomoserine lyase" EMBL, 1 octobre 2001 (2001-10-01), XP002274157

2 NOUVEAUTÉ (Art. 33(2) PCT) - ACTIVITÉ INVENTIVE (Art. 33(3) PCT)

2.1 Le document D1 décrit (cf. pages 1, 2, 5 (point 5) et exemples 1 et 3) un procédé de préparation de microorganismes (E. coli, C. glutamicum et B. flavum) évolués, permettant une modification de la voie de biosynthèse de méthionine, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes: (a) obtention d'un microorganisme modifié par modification génétique des cellules d'un microorganisme initial de manière à inhiber la production d'un métabolite (homosérine) lorsque le microorganisme est cultivé sur un milieu défini, affectant ainsi la capacité de croissance du microorganisme; (b) culture des microorganismes modifiés précédemment obtenus sur ledit milieu définis pour le faire évoluer (milieu contenant du glucose, du hydrolysate de soja et des nutriments inorganiques, le co-substrat afin de permettre l'évolution étant méthylmercaptan ou H₂S); (c) sélection des cellules de microorganismes modifiés capables de se développer sur le milieu défini avec le co-substrat. Le procédé comprend l'étape supplémentaire (a1) d'introduction d'au

moins un gène hétérologue codant pour une protéine hétérologue, ledit gène hétérologue étant destinée à permettre l'évolution d'une nouvelle voie métabolique préalable à l'étape (b), c'est-à-dire l'introduction des gènes codant pour la cystathionine-gamma-synthase et l'O-acyl-L-homosérine sulfhydrolase. L'évolution des protéines permet de remplacer la voie métabolique inhibée (homosérine) par une nouvelle voie métabolique (méthionine). Par conséquent, l'objet des revendications 1-4 et 7-14 est anticipé par le document D1. En outre, D1 démontre un tel gène codant pour une telle protéine à activité "méthionine synthase" modifiée choisie parmi les cystathionine-gamma-synthases et les O-acyl-L-homosérine sulfhydrolases et l'utilisation d'un tel microorganisme ou d'une telle protéine dans un procédé de biotransformation, c'est-à-dire la préparation de méthionine. Par conséquent, l'objet des revendications 15-17 et 35 est anticipé par le document D1.

- 2.2 Les termes "modifié(e)(s)", "modification(s)", "évolué(e)(s)" et "correspondant" utilisés dans les revendications sont vagues, indéfinies et équivoques, et laissent un doute quant à la signification des caractéristiques techniques auxquelles ils réfèrent et quant à la portée des revendications. L'objet des revendications n'est donc pas clairement défini (article 6 PCT), ayant des conséquences sur la nouveauté des revendications.
- 2.3 Il ne semble pas que l'expression "K183" donne aucune caractéristique technique essentielle à la définition de la revendication 12.
- 2.4 Les revendications 18-25, 27 et 28 ne contiennent pas de caractéristiques qui, combinées avec les caractéristiques d'une quelconque revendication à laquelle elles se réfèrent, satisfont aux exigences du PCT en matière de nouveauté et d'activité inventive (Article 33 (2) et (3) PCT). Le document D2 (cf. le document en entier) démontre une cystathionine-gamma-synthase "non modifiée" ayant 100% d'identité avec la séquence de cystathionine-gamma-synthase de E. coli K12 représentée sur la SEQ ID NO 6. Le document D3 (cf. le document en entier) démontre une enzyme "évoluée" ou "modifiée" comprenant la séquence d'acides aminés suivante dans sa partie C-terminale, AASLGGVES, "correspondant" aux résidus 324 à 332 de la séquence de cystathionine-gamma-synthase de E.coli représentée sur la SEQ ID NO 8.
- 2.5 La combinaison des caractéristiques de la revendication 26 n'est pas comprise

dans l'état de la technique et n'en découle pas de manière évidente, parce qu'il n'est pas évident pour la personne du métier d'obtenir une cystathionine-gamma-synthase à activité "méthionine synthase" comprenant la séquence d'acides aminés représentée sur la SEQ ID NO 8.

- 2.6 La présente demande ne remplit pas les conditions énoncées dans l'article 33(1) PCT, l'objet des revendications 1-4, 7-25, 27, 28 et 35 n'étant pas conforme au critère de nouveauté défini par l'Article 33(2) PCT et n'impliquant pas une activité inventive telle que définie par l'article 33(3) PCT.